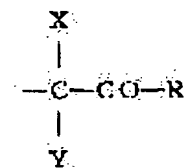


(11)Publication number : 2000-256387
(43)Date of publication of application : 19.09.2000

C07H 19/067
A61K 41/00
C07H 19/073
// A61P 35/00
A61K 31/7072

(72)Inventor : NISHIMOTO SEIICHI
HATTA HIROSHI
SHU REI
MORI MAYUKO
SAKAKIBARA SHINGO

O=C1C(=O)N(R)C(F)=CN1R

03/12/19

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-256387

(P2000-256387A)

(43) 公開日 平成12年9月19日 (2000.9.19)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-ト* (参考)
C 0 7 H 19/067		C 0 7 H 19/067	4 C 0 5 7
A 6 1 K 41/00		A 6 1 K 41/00	4 C 0 8 4
C 0 7 H 19/073		C 0 7 H 19/073	4 C 0 8 6
// A 6 1 P 35/00		A 6 1 K 31/00	6 3 5
A 6 1 K 31/7072		31/70	6 1 9
審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 12 頁)			

(21) 出願番号 特願平11-64500

(22) 出願日 平成11年3月11日 (1999.3.11)

(71) 出願人 899000046

関西ティ-エル-オー株式会社

京都府京都市下京区中堂寺栗田町1番地

(72) 発明者 西本 清一

奈良県奈良市朱雀1-17-20

(72) 発明者 八田 博司

滋賀県大津市横木1-15-7

(72) 発明者 周 玲

京都府京都市中京区油小路通姉小路 upper 式

阿弥陀130 御池サンハイツ607

(74) 代理人 100098969

弁理士 矢野 正行

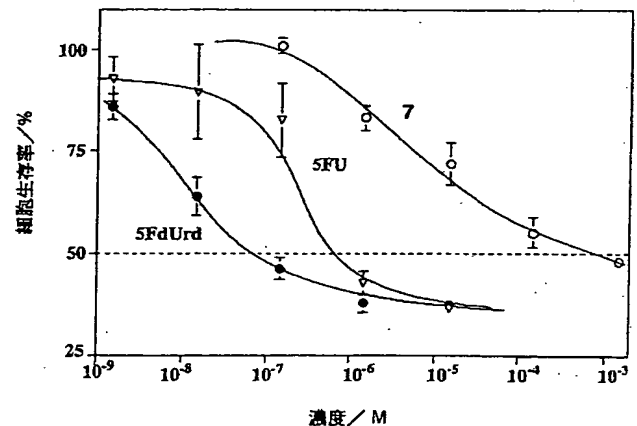
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 5-フルオロウラシル誘導体を核酸塩基とする新規ヌクレオシド及びそれを含有する放射性還元活性化プロドラッグ

(57) 【要約】

【課題】 (1) 抗腫瘍作用が5FUよりも著しく強い化合物を遊離しうる前駆体を提供すること、(2) 正常細胞には作用せず、放射線照射によって腫瘍細胞に特異的に毒性を発揮しうる化合物を遊離しうる前駆体を提供すること、(3) そのような前駆体を有効成分として含有するプロドラッグを提供することにある。

【解決手段】 3位が2-オキシ基をもつ有機基で置換された5-フルオロデオキシウリジン誘導体もしくは5-フルオロウリジン誘導体、及びそれを有効成分として含有する、放射線照射によって活性化される抗腫瘍性プロドラッグである。

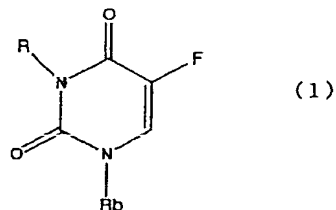


(2)

【特許請求の範囲】

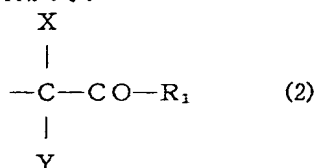
【請求項1】式：

【化1】



〔式中、Rは2-オキシ基をもつ有機基、RbはD-2'-デオキシリボース又はD-リボースを表す。〕で示される5-フルオロウラシル誘導体を核酸塩基とするヌクレオシド。

【請求項2】Rが式：



〔式中、X及びYは、水素原子又はアルキル基；R₁は、上記COと共役する多重結合を持たない直鎖もしくは分岐状の炭化水素基を示し、R₁はX又はYと結合して環を形成しても良い。〕で示される基である請求項1に記載のヌクレオシド。

【請求項3】請求項1～2のいずれかで示されるヌクレオシドを有効成分として含有する放射性還元活性化プロドラッグ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、5-フルオロウラシル誘導体を核酸塩基とする新規ヌクレオシド及びそれを含有する放射性還元活性化プロドラッグに属する。

【0002】

【従来の技術】悪性腫瘍細胞の増殖を抑制する治療法として、外科療法他に放射線照射、抗腫瘍化合物投与等がある。これらのうち、放射線照射は、臓器を切除する外科的療法と異なり臓器の機能回復を期待できる、抗腫瘍化合物投与と異なり正常細胞を不活性化することがない等の利点を有する。

【0003】放射線照射の原理は、細胞内の70%が水であることに鑑み、ガン細胞に放射線を照射することにより、その細胞内の水が水酸ラジカルと水和電子とに分解し $[\text{H}_2\text{O} \rightarrow \cdot\text{OH} + e_{\text{aq}}^-]$ 、発生した水酸ラジカルが開始剤となって、ガン細胞のDNAを破壊する酸化反応が連鎖的に起こり、ガン細胞の増殖を抑制するものである。

【0004】ところで、ガン組織内には、毛細血管に隣接して血管から酸素の供給が十分な酸素細胞と、血管から遠く離れて壊死した無酸素細胞と、それらの境界に位置する低酸素細胞とが存在する。これらのうち無酸素細胞

は既に壊死しているので増殖の心配はない。上記放射線照射による治療法は、酸化反応を利用することから酸素細胞に対しては極めて有効である。従って、初期ガンの場合は酸素細胞のみであるから、放射線治療で治癒される。問題は、末期ガンに必ず存在する低酸素細胞であって、これは酸素濃度が低い状態で生存するから放射線照射によって破壊されにくい。しかも放射線治療によって酸素細胞が破壊されると、低酸素細胞が血管からの酸素供給を受けやすくなり、酸素細胞となって増殖する。結局、放射線照射の治療効果がなくなる。放射線の照射量を多くすることも考えられるが、正常細胞まで破壊されるのを防止するため、臨床治療では照射量をできるだけ少なくしたいという要請もある。

【0005】そこで、放射線に対する低酸素細胞の感受性を高める薬剤としての放射線増感剤の開発が盛んに行われている。本発明者らも含フッ素2-ニトロイミダゾールが極めて有用な放射線増感剤であることを見だし、特開平2-275863号公報に開示した。その後、更に本発明者らは、最も広く使用されている抗腫瘍剤の一つである5-フルオロウラシル(5FU)を放射線還元分解反応によって遊離するプロドラッグとしての5FU誘導体を開示した(日本化学会第74春季年会講演予稿集、1230(1998))。

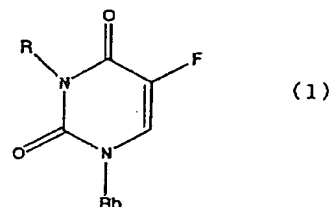
【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明の第一の課題は、抗腫瘍作用が5FUよりも著しく強い化合物を遊離しうる前駆体を提供することにある。第二の課題は、正常細胞には作用せず、放射線照射によって腫瘍細胞に特異的に毒性を発揮しうる化合物を遊離しうる前駆体を提供することにある。第三の課題は、そのような前駆体を有効成分として含有するプロドラッグを提供することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】上記の課題は、式：

【化2】



〔式中、Rは2-オキシ基をもつ有機基、RbはD-2'-デオキシリボース又はD-リボースを表す。〕で示される5-フルオロウラシル誘導体を核酸塩基とするヌクレオシドにより解決される。

【0008】上記一般式において、RbがD-2'-デオキシリボースであるときはヌクレオシド(1)は5-フルオロデオキシウリジン(5FdUrd)誘導体となり、RbがD-リボースであるときは5-フルオロウリジン(5FUrd)誘導体となる。以下、本発明の作用を5FdUrd

(3)

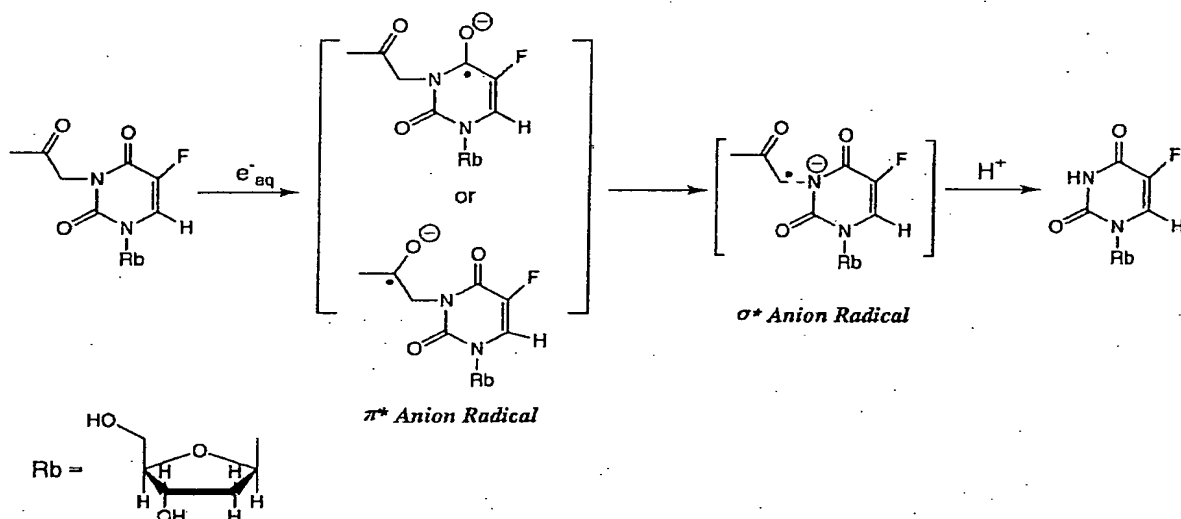
に基づいて説明するが、基本的なメカニズムは5FUrdの場合も同様である。

【0009】生体に放射線を照射すると前述の如く細胞内の水の分解により水酸ラジカルとともに水和電子が生じる。そこで、本発明の5FdUrd誘導体(1)を生体に投与して放射線を照射すると、無酸素ないし酸素濃度の低い部分では、水酸ラジカルを開始剤とする前述の酸素酸化反応は起こらず、以下に示すメカニズムに従って水和

電子による還元反応が起こる。すなわち、N3位に2-オキシ基をもつ5FdUrd誘導体(1)が水和電子(e_{aq}^-)によって一電子還元され、5FdUrdを遊離する。この5FdUrdは5FUの10倍以上の抗腫瘍活性を発揮する。

【0010】

【化3】



【0011】これは次の理由による。5FUは生体内での酵素反応により5FdUrdを中間体として5-フルオロデオキシウリジル酸(5FdUMP)に変化する。そして、このヌクレオチドの構造が、DNA合成の基質となる5'-デオキシチミジル酸(dTMP)の前駆体であるデオキシウリジル酸(dUMP)の構造に近似していることから、dTMPを生成する酵素がdUMPに作用せず5FdUMPに作用して消費されてしまう。こうして5FU投与によりガン細胞の代謝経路が阻害される。しかし、生体内での5FUから5FdUrdの生成率は10%程度しかない。これに対して、本発明の5FdUrd誘導体(1)は、5FdUrdの遊離機能に優れ、置換基によっては遊離効率が90%以上にも達する。こうして生体内では実質的に5FdUrdが5FUの10倍近い抗腫瘍活性を発揮するのである。

【0012】本発明の5FdUrd誘導体そのものは生体に対して毒性が無く、放射線照射で遊離された5FdUrdのみが抗腫瘍活性を有する。しかもその放射線遊離反応が

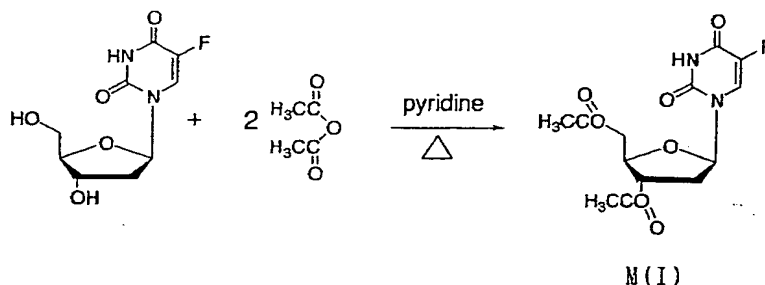
還元反応であるから、酸素の供給が十分な正常細胞域では放射線が照射されたとしても5FdUrdは遊離されず、低酸素ガン細胞域でのみ遊離される。従って、正常細胞を損傷することなく低酸素ガン細胞の増殖を抑制する。なお、ガンの酸素細胞は従来方式の放射線治療で容易に破壊することができる。よって、本発明の5FdUrd誘導体を有効成分として含む薬剤は、放射線照射で活性化される抗腫瘍性プロドラッグとして機能する。

【0013】本発明の5FdUrd誘導体は、次の方法によって製造可能である。まず、出発原料として市販の5FdUrdを準備し、糖の水酸基が誘導体合成反応に関与しないようにアセチル基等で保護する。例えば次の反応式で示すようにピリジン溶液中で無水酢酸を作用させ、糖のアルコール部分をアセチル基で保護する。

【0014】

【化4】

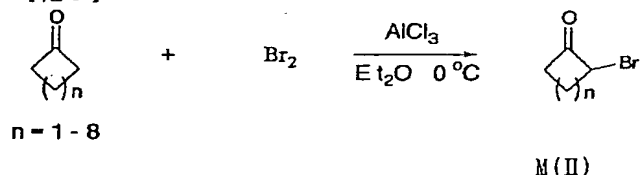
(4)



【0015】別途、前記一般式(2)に記載の置換基Rに対応する α -プロモケトンを準備する。プロモ体以外のハロゲン化物でもよい。例えば置換基Rが2-オキソシクロアルキル基であるとするなら、次のように2-オキソシクロアルカンと臭素を塩化アルミニウムのエーテル溶液中、氷冷下で反応させて合成することもできる。

【0016】

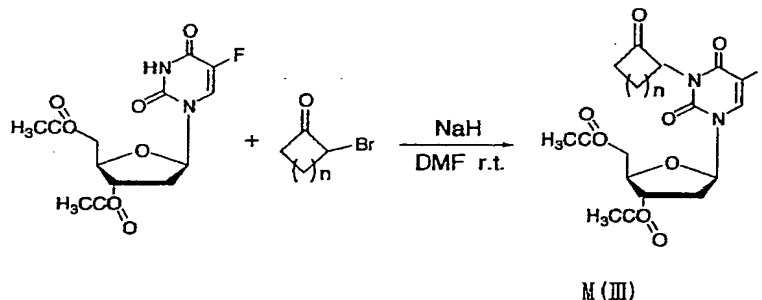
【化5】



【0017】上記で得られた中間体3',5'-ビス-O-アセチル-5-フルオロデオキシウリジン(M(I))にN,N-ジメチルホルムアミド溶液中、氷冷下で水素化ナトリウムを作用させ、続いて α -プロモケトン(M(II))と室温で反応させることにより、3',5'-ビス-O-アセチル-3-(2-オキソアルキル)-5-フルオロデオキシウリジン(M(III))を得る。

【0018】

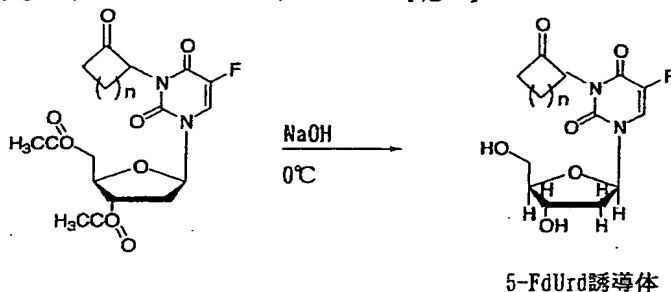
【化6】



【0019】このM(III)を氷冷下、水酸化ナトリウムにより加水分解して目的物である3-(2-オキソアルキル)-5-

-フルオロデオキシウリジンを製造することができる。

【化7】



【0020】なお、本発明のヌクレオシドと作用効果を比較するために、N3位に2-オキソ基を持たない5-フルオロデオキシウリジン誘導体、例えば3-(アルキル)-5-フルオロデオキシウリジン誘導体を合成する場合も、 α -プロモケトンに代えてプロモアルカンをM(I)と反応させる以外は上記の方法に従う。

【0021】また、前記一般式(1)でRがリボース

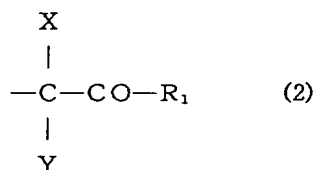
であるヌクレオシド、すなわちN3位をアルキル基あるいは2-オキソアルキル基で置換した5-フルオロウリジン誘導体を合成する場合も、基本的に上記の方法に従う。すなわち、5-フルオロウリジンを出発原料とし、これに安息香酸無水物を作用させて糖のアルコール部分を保護した2',3',5'-トリ-O-ベンゾイル-5-フルオロウリジン(M(IA))を得る。続いて、このM(IA)をプロモ化合物と

(5)

反応させて、得られた2',3',5'-トリス-O-ベンゾイル-3-(2-オキソアルキル)-5-フルオロウリジン(M(IIIA))を水酸化ナトリウムにより加水分解することにより、目的物である3-(2-オキソアルキル)-5-フルオロウリジンを製造することができる。

【0022】

【発明の実施の形態】上記一般式(1)でRは、例えば式：



【式中、X及びYは、水素原子又はアルキル基；R₁は、上記COと共役する多重結合を持たない直鎖もしくは分岐状の炭化水素基を示し、R₁はX又はYと結合して環を形成しても良い。】で示される基である。

【0023】

【実施例】以下、本発明のヌクレオシドの製造例及び実施例を示す。以下の説明において、例えば「M(II)-8」の「M」は中間体、「(II)」は第II章、「-8」は対応する最終生成物が第8番目であることを示す。すなわち、M(II)-8は、以下の説明中の第II章に例示された中間体うち、対応する最終生成物が第8番目のものであることを示す。

【0024】3-置換 5-フルオロデオキシウリジン誘導体の製造例

【I】3',5'-ビス-O-アセチル-5-フルオロデオキシウリジン(M(I))の合成

5-フルオロデオキシウリジン(1.03g)のピリジン溶液(20ml)に室温で2.1当量の無水酢酸を滴下し、90℃で3.5時間攪拌した。室温に戻るまで放置し、反応混合物を氷水に注ぎ、クロロホルムで3回抽出した。有機層を0.01N硫酸、1%炭酸水素水、水で洗浄した後硫酸マグネシウムで乾燥した。濾過後、溶媒を減圧下濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製することにより標記化合物(1.26g, 91.1%)を得た。

¹H NMR (DMSO-d₆, 300MHz): δ 8.97(brs, 1H), 7.66(d, J=6.06Hz, 1H), 6.33-6.28(m, 1H), 5.24-5.20(m, 1H), 4.44-4.27(m, 3H), 2.57-2.50(m, 1H), 2.21-2.12(m, 7H)

【0025】[II] α-プロモケトン(M(II))の合成

2-プロモシクロペンタノン(M(II)-8)の合成

シクロペンタノン(4.21g, 0.050mol)と塩化アルミニウム(0.094g)のエーテル溶液に、氷冷下で臭素(7.99g, 0.050mol)を滴下した後室温で3時間攪拌した。反応混合物をエーテルで抽出した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。濾過後、溶媒を減圧濃縮し、得られた残渣をシリカ

ゲルカラムグラフィーにより精製して標記化合物(3.31g, 40.6%)を得た。2-プロモシクロブタノン(M(II)-7)、2-プロモシクロヘキサノン(M(II)-9)及び2-プロモ-4-メチルシクロヘキサノン(M(II)-10)も上記の方法にしたがって合成した。その他のプロモケトン及びプロモアルカンは市販品を使用した。

【0026】[III] 3',5'-ビス-O-アセチル-3-アルキル-5-フルオロデオキシウリジンおよび3',5'-ビス-O-アセチル-3-(2-オキソアルキル)-5-フルオロデオキシウリジン(M(III))の合成

【0027】3',5'-ビス-O-アセチル-3-(2-オキソプロピル)-5-フルオロデオキシウリジン(M(III)-2)の合成
水素化ナトリウム(127mg)を含むジメチルホルムアミド懸濁液に氷冷下、3',5'-ビス-O-アセチル-5-フルオロデオキシウリジン(M(I))(1.0g)を加え、氷冷下0.5時間攪拌した。プロモアセトン(0.25ml)を加えた後、室温で終夜攪拌した。水(5ml)を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗った後、硫酸マグネシウムで乾燥した。ろ過後、溶媒を減圧下で濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製して標記化合物(oil, 0.82g, 70%)を得た。

¹H NMR(CDCl₃, 270MHz): δ 7.71(d, J=5.9Hz, 1H), 6.27(t, J=6.8Hz, 1H), 5.22(d, J=7.6Hz, 1H), 4.77(s, 2H), 4.29-4.42(m, 3H), 2.50-2.57(m, 1H), 2.27(s, 3H), 2.14-2.27(m, 1H), 2.14(s, 3H), 2.10(s, 3H).

元素分析値: C₁₆H₁₉FN₂O₈

計算値: C, 49.74%; H, 4.96%; N, 7.25%

実測値: C, 48.76%; H, 5.19%; N, 7.08%

【0028】3',5'-ビス-O-アセチル-3-(2-オキソブチル)-5-フルオロデオキシウリジン(M(III)-3)の合成
プロモアセトンに代えて1-プロモ-2-ブタノンをを用いた以外はM(III)-2)の合成法に従って標記化合物(oil, 1.40g)を得た。

¹H NMR(CDCl₃, 270MHz): δ 7.71(d, J=6.3Hz, 1H), 6.27(t, J=6.1Hz, 1H), 5.22(d, J=6.6Hz, 1H), 4.76(s, 2H), 4.28-4.42(m, 3H), 2.50-2.61(m, 3H), 2.18-2.20(m, 1H), 2.14(s, 3H), 2.10(s, 3H), 1.13(t, J=7.3Hz, 3H).

元素分析値: C₁₇H₂₁FN₂O₃ · H₂O

計算値: C, 48.81%; H, 5.54%; N, 6.70%

実測値: C, 48.84%; H, 5.46%; N, 6.63%

【0029】3',5'-ビス-O-アセチル-3-(3-メチル-2-オキソブチル)-5-フルオロデオキシウリジン(M(III)-4)の合成

プロモアセトンに代えて1-プロモ-3-メチル-2-ブタノンをを用いた以外はM(III)-2)の合成法に従って標記化合物(oil, 1.01g, 80.4%)を得た。

¹H NMR(CDCl₃, 270MHz): δ 7.76(d, J=5.9Hz, 1H), 6.30(t, 1H), 5.24(d, 1H), 4.85(s, 2H), 4.31-4.44(m,

(6)

3H), 2.75-2.83(m, 1H), 2.55(d, J=8.9Hz, 1H), 2.17-2.30(m, 1H), 2.16(s, 3H), 2.12(s, 3H), 1.22(d, J=6.9Hz, 3H).

元素分析値: $C_{18}H_{23}FN_2O_8 \cdot H_2O$

計算値: C, 50.00% : H, 5.83% : N, 6.48%

実測値: C, 50.39% : H, 5.76% : N, 6.44%

【0030】3',5'-ビス-O-アセチル-3-(3,3-ジメチル-2-オキソブチル)-5-フルオロデオキシウリジン(M(III)-6)の合成

ブROMOアセトンに代えて1-ブROMO-3,3-ジメチル-2-ブタノンをを用いた以外はM(III)-2)の合成法に従って標記化合物(oil, 0.92g, 70.9%)を得た。

1H NMR($CDCl_3$, 270MHz): δ 7.69(d, J=5.9Hz, 1H), 6.27(t, J=6.3Hz, 1H), 5.20-5.24(m, 1H), 4.92(d, J=0.7Hz, 2H), 4.26-4.43(m, 3H), 2.51-2.59(m, 1H), 2.15(s, 3H), 2.13-2.23(m, 1H), 2.10(s, 3H), 1.27(s, 9H).

元素分析値: $C_{19}H_{25}FN_2O_8 \cdot H_2O$

計算値: C, 51.12% : H, 6.10% : N, 6.27%

実測値: C, 51.48% : H, 6.07% : N, 6.26%

【0031】3',5'-ビス-O-アセチル-3-プロピル-5-フルオロデオキシウリジン(M(III)-1)の合成

ブROMOアセトンに代えて1-ブROMO-プロパンを用いた以外はM(III)-2)の合成法に従って、標記化合物(153mg, 59.8%)を得た。

【0032】3',5'-ビス-O-アセチル-3-(2-オキソシクロペンチル)-5-フルオロデオキシウリジン(M(III)-8)の合成

水素化ナトリウム(100mg)を含むジメチルホルムアミド懸濁液に氷冷下、3',5'-ビス-O-アセチル-5-フルオロデオキシウリジン(M(I)) (430 mg)を加え、氷冷下40分間攪拌した。2-ブROMOシクロペンタノン(M(II)-8)

(0.218 g)を加え、室温下で17時間攪拌した。水を少量加え酢酸エチルで抽出し、有機層を水、飽和食塩水で洗浄した後、硫酸マグネシウムで乾燥した。濾過後、溶媒を減圧下で濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製して標記化合物(146 mg, 27.1%)を得た。

【0033】3',5'-ビス-O-アセチル-3-(2-オキソシクロブチル)-5-フルオロデオキシウリジン(M(III)-7)の合成

2-ブROMOシクロペンタノンに代えて2-ブROMOシクロブタノンをを用いた以外はM(III)-8)の合成法に従って、標記化合物(70 mg, 17.5%)を得た。

【0034】3',5'-ビス-O-アセチル-3-(2-オキソシクロヘキシル)-5-フルオロデオキシウリジン(M(III)-9)の合成

2-ブROMOシクロペンタノンに代えて2-ブROMOシクロヘキサノンをを用いた以外はM(III)-8)の合成法に従って標記化合物(80mg, 29.3%)を得た。

【0035】3',5'-ビス-O-アセチル-3-(4-メチル-2-オキソシクロヘキシル)-5-フルオロデオキシウリジン(M(III)-10)の合成

ブROMOアセトンに代えて2-ブROMO-4-メチルシクロヘキサノンをを用いた以外はM(III)-2)の合成法に従って標記化合物(oil, 0.47g, 36.5%)を得た。

1H NMR($CDCl_3$, 270MHz): δ 7.62 7.71(m, 1H), 6.17-6.36(m, 1H), 5.35-5.42(m, 1H), 5.21(s, 1H), 4.28-4.42(m, 3H), 2.28-2.72(m, 4H), 1.86-2.28(m, 8H), 1.50-1.72(m, 1H), 1.07(d, J=5.9Hz, 3H).

元素分析値: $C_{20}H_{25}FN_2O_8 \cdot H_2O$

計算値: C, 52.20% : H, 6.35% : N, 6.08%

実測値: C, 53.72% : H, 6.08% : N, 5.65%

【0036】[IV] 3-アルキル-5-フルオロデオキシウリジン誘導体および3-(2-オキソアルキル)-5-フルオロデオキシウリジン誘導体の合成

3-(2-オキソプロピル)-5-フルオロデオキシウリジン(生成物No. 2)の合成

3',5'-ビス-O-アセチル-3-(2-オキソプロピル)-5-フルオロデオキシウリジン(M(III)-2) (0.34g)のメタノール溶液(5 ml)に氷冷下で1N水酸化ナトリウム溶液(0.88 ml)を滴下した。氷冷下で20分間攪拌した後、反応混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製して標記化合物(oil, 0.15g, 56.4%)を得た。

1H NMR($DMSO-d_6$, 300MHz): δ 8.38(d, J=6.97Hz, 1H), 6.15(t, J=6.24Hz, 1H), 5.28(d, J=4.04Hz, 1H), 5.20(t, J=4.86Hz, 1H), 4.70(s, 2H), 4.26-4.23(m, 1H), 3.81-3.80(m, 1H), 3.66-3.55(m, 2H), 2.20(s, 3H), 2.13(t, J=5.60Hz, 2H)

HRMS(FAB): $C_{12}H_{16}FN_2O_6$ (M+H)⁺

計算値 303.0992

実測値 303.1006

【0037】3-プロピル-5-フルオロデオキシウリジン(生成物No. 1)の合成

出発物質としてM(III)-2に代えてM(III)-1を用いた以外は生成物No. 2の合成法に従って、標記化合物(oil, 83mg, 70.0%)を得た。

1H NMR($DMSO-d_6$, 300MHz): δ 8.28(d, J=6.97Hz, 1H), 6.17(t, J=5.87Hz, 1H), 5.26(d, J=4.22Hz, 1H), 5.17(t, J=4.86Hz, 1H), 4.24-4.22(m, 1H), 3.79-3.72(m, 3H), 3.64-3.54(m, 2H), 2.12(t, J=5.60Hz, 2H), 1.56-1.49(m, 2H), 0.84(t, J=7.43Hz, 3H)

HRMS(FAB): $C_{12}H_{18}FN_2O_5$ (M+H)⁺

計算値 289.1200

実測値 289.1213

【0038】3-(2-オキソブチル)-5-フルオロデオキシウリジン(生成物No. 3)の合成

出発物質としてM(III)-2に代えてM(III)-3を用いた以外は生成物No. 2の合成法に従って、標記化合物(oil, 0.38g, 46.7%)を得た。

(7)

^1H NMR (CDCl_3 , 270MHz): δ 8.14(d, $J=6.6\text{Hz}$, 1H), 6.21(t, $J=5.9\text{Hz}$, 1H), 4.74(s, 2H), 4.42(br-s, 1H), 3.97(d, $J=5.5\text{Hz}$, 2H), 3.72-3.88(m, 3H), 2.57(q, $J=7.3\text{Hz}$, 2H), 2.17-2.39(m, 2H), 1.09(t, $J=7.3$, 3H)

元素分析値: $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{FN}_2\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$

計算値: C, 46.71% : H, 5.73% : N, 8.38%

実測値: C, 47.28% : H, 5.85% : N, 8.35%

【0039】3-(3-メチル-2-オキソブチル)-5-フルオロデオキシウリジン(生成物No. 4)の合成

出発物質としてM(III)-2に代えてM(III)-4を用いた以外は生成物No. 2の合成法に従って、標記化合物 (0.26g, 4.7%) を得た。

融点: 102~104°C

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 270MHz): δ 8.39(d, $J=6.9\text{Hz}$, 1H), 6.16(t, $J=5.8\text{Hz}$, 1H), 5.29(d, $J=4.3\text{Hz}$, 1H), 5.21(t, $J=5.0\text{Hz}$, 1H), 4.79(s, 2H), 4.22-4.31(m, 1H), 3.82(d, $J=3.0\text{Hz}$, 1H), 3.55-3.70(m, 2H), 2.75-2.92(m, 1H), 2.14(t, $J=5.8\text{Hz}$), 1.09(s, 1H), 1.06(s, 1H).

元素分析値: $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}_6$

計算値: C, 50.91% : H, 5.80% : N, 8.48%

実測値: C, 50.76% : H, 6.16% : N, 8.47%

【0040】3-(3,3-ジメチル-2-オキソブチル)-5-フルオロデオキシウリジン(生成物No. 6)の合成

出発物質としてM(III)-2に代えてM(III)-6を用いた以外は生成物No. 2の合成法に従って、標記化合物 (0.23g, 28.7%) を得た。

融点: 89.0~92.5°C

^1H NMR (CDCl_3 , 270MHz): δ 8.11(d, $J=6.3\text{Hz}$, 1H), 6.22(t, $J=6.1\text{Hz}$, 1H), 4.91(s, 2H), 4.46(s, 1H), 3.77-3.96(m, 3H), 3.37(br-s, 2H), 2.21-2.34(m, 2H), 1.76(s, 9H).

元素分析値: $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_6$

計算値: C, 52.32% : H, 6.15% : N, 8.14%

実測値: C, 52.13% : H, 6.44% : N, 8.09%

【0041】3-(2-オキソシクロブチル)-5-フルオロデオキシウリジン(生成物No. 7)の合成
出発物質としてM(II)-2に代えてM(III)-7を用いた以外は生成物No. 2の合成法に従って、標記化合物 (oil, 51mg, 93.8%) を得た。

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300MHz): δ 8.36(d, $J=6.98\text{Hz}$, 1H), 6.10(t, $J=5.88\text{Hz}$, 1H), 5.84(t, $J=8.52\text{Hz}$, 1H), 5.26(d, $J=3.85\text{Hz}$, 1H), 5.19(s, 1H), 4.23(t, $J=4.04\text{Hz}$, 1H), 3.80(s, 1H), 3.54-3.65(m, 2H), 3.00(t, $J=8.35\text{Hz}$, 2H), 2.21-2.36(m, 2H), 2.14(dd, $J=5.69$, 4.86Hz, 2H).

HRMS (FAB): $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{FN}_2\text{O}_6$ (M+H)⁺

計算値 315.0992

実測値 315.1000

【0042】3-(2-オキソシクロペンチル)-5-フルオロデオキシウリジン(生成物No. 8)の合成

3',5'-ビス-O-アセチル-3-(2-オキソシクロペンチル)-5-フルオロデオキシウリジン(M(III)-8) (146mg) のメタノール溶液 (2ml) に氷冷下で0.25N水酸化ナトリウム溶液 (0.35ml) を滴下し、15分間攪拌した。反応混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製して標記化合物 (oil, 94.3mg, 81.4%) を得た。

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300MHz): δ 8.36(d, $J=6.79\text{Hz}$, 1H), 6.08(brs, 1H), 5.26(d, $J=4.04\text{Hz}$, 1H), 5.18(t, $J=4.50\text{Hz}$, 1H), 5.03(brs, 1H), 4.25-4.22(m, 1H), 3.80-3.79(m, 1H), 3.65-3.53(m, 2H), 2.32-2.05(m, 7H), 1.95-1.82(m, 1H)

HRMS (FAB): $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{FN}_2\text{O}_6$ (M+H)⁺

計算値 329.1149

実測値 329.1142

【0043】3-(2-オキソシクロヘキシル)-5-フルオロデオキシウリジン(生成物No. 9)の合成

出発物質としてM(III)-2に代えてM(III)-9を用いた以外は生成物No. 2の合成法に従って、標記化合物 (oil, 31mg, 48.4%) を得た。

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300MHz): δ 8.35(d, $J=6.97\text{Hz}$, 1H), 6.13(brs, 1H), 5.25-5.19(m, 3H), 4.25-4.23(m, 1H), 3.80-3.79(m, 1H), 3.65-3.55(m, 2H), 2.32-2.20(m, 2H), 2.15-2.11(m, 2H), 2.00-1.59(m, 6H).

HRMS (FAB): $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{FN}_2\text{O}_6$ (M+H)⁺

計算値 343.1305

実測値 343.1308

【0044】3-(4-メチル-2-オキソシクロヘキシル)-5-フルオロデオキシウリジン(生成物No. 10)の合成

出発物質としてM(III)-8に代えてM(III)-10を用いた以外は生成物No. 8の合成法に従って、標記化合物 (0.12g, 78.2%) を得た。

融点: 76.6~80.3°C

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 270MHz): δ 8.02-8.18(m, 1H), 6.21(t, $J=5.3\text{Hz}$, 1H), 5.16-5.45(m, 1H), 4.46(s, 1H), 3.19-4.06(m, 5H), 1.94-2.72(m, 8H), 1.62(t, $J=10.6\text{Hz}$, 1H), 1.06(d, $J=5.6\text{Hz}$, 3H).

元素分析値: $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_6$

計算値: C, 53.93% : H, 5.94% : N, 7.86%

実測値: C, 53.47% : H, 6.43% : N, 7.76%

【0045】3-置換 5-フルオロウリジン誘導体の製造例

[IA] 2',3',5'-トリス-O-ベンゾイル-5-フルオロウリジン(M(IA))の合成

5-フルオロウリジンを出発原料とし、これに安息香酸無水物を作用させて糖のアルコール部分を保護した標記化合物を得た。

【0046】[IIIA] 2',3',5'-トリス-O-ベンゾイル-3-(2-オキソアルキル)-5-フルオロウリジン(M(IIIA))の合成

2',3',5'-トリス-O-ベンゾイル-3-(2-オキソプロピル)-

(8)

5-フルオロウリジン(M(IIIA)-2a)の合成

水素化ナトリウム (73.1 mg) を含むジメチルホルムアミド懸濁液に氷冷下、2',3',5'-トリス-O-ベンゾイル-5-フルオロウリジン (M(IA)) (1.0 g) を加え、氷冷下0.5時間攪拌した。ブロモアセトン (5 ml) を加えた後、室温下で終夜攪拌した。水 (5 ml) を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水及び飽和食塩水で洗った後、硫酸マグネシウムで乾燥した。ろ過後溶媒を減圧下で濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製して標記化合物 (0.71 g, 64.7%) を得た。

融点: 68.0~70.5°C

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 270MHz): δ 8.09(d, $J=7.3\text{Hz}$, 2H), 7.94(t, $J=7.6\text{Hz}$, 4H), 7.33-7.64(m, 10H), 6.31(d, $J=5.3\text{Hz}$, 1H), 5.88(t, $J=5.1\text{Hz}$, 1H), 5.75(t, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 4.63-4.83(m, 5H), 2.19(s, 3H).

元素分析値: $\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{FN}_2\text{O}_{10}$

計算値: C, 62.86%; H, 4.32%; N, 4.42%

実測値: C, 63.36%; H, 4.89%; N, 4.18%

【0047】2',3',5'-トリス-O-ベンゾイル-3-(2-オキソブチル)-5-フルオロウリジン(M(IIIA)-3a)の合成
ブロモアセトンに代えて1-ブロモ-2-ブタノンを用いた以外はM(IIIA)-2aの合成法に従って、標記化合物 (1.87 g, qu.) を得た。

融点: 64~65°C

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 270MHz): δ 8.09-8.12(m, 2H), 7.91-7.97(m, 4H), 7.34-7.65(m, 10H), 6.32(d, $J=4.0\text{Hz}$, 1H), 5.86(t, $J=5.9\text{Hz}$, 1H), 5.71(t, $J=5.71\text{Hz}$, 1H), 4.69-4.84(m, 5H), 2.51(q, $J=7.3\text{Hz}$, 2H), 1.09(t, $J=7.3\text{Hz}$).

元素分析値: $\text{C}_{34}\text{H}_{29}\text{FN}_2\text{O}_{10} \cdot \text{H}_2\text{O}$

計算値: C, 63.35%; H, 4.53%; N, 4.35%

実測値: C, 63.14%; H, 4.69%; N, 4.20%

【0048】2',3',5'-トリス-O-ベンゾイル-3-(3-メチル-2-オキソブチル)-5-フルオロウリジン(M(IIIA)-4a)の合成

ブロモアセトンに代えて1-ブロモ-3-メチル-2-ブタノンを用いた以外はM(IIIA)-2aの合成法に従って、標記化合物 (1.29g, 69.1%) を得た。

融点: 65.3~67.0°C

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 270MHz): δ 8.10(d, $J=7.3\text{Hz}$, 2H), 7.92-7.97(m, 4H), 7.34-7.64(m, 10H), 6.34(d, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 5.86(t, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 5.71(t, $J=5.1\text{Hz}$, 1H), 4.71-4.89(m, 5H), 2.67-2.77(m, 1H), 1.18(s, 3H), 1.15(s, 3H).

元素分析値: $\text{C}_{32}\text{H}_{31}\text{FN}_2\text{O}_{10}$

計算値: C, 63.83%; H, 4.74%; N, 4.25%

実測値: C, 63.52%; H, 4.82%; N, 4.21%

【0049】2',3',5'-トリス-O-ベンゾイル-3-(1-メチル-2-オキソプロピル)-5-フルオロウリジン(M(IIIA)-5

a)の合成

ブロモアセトンに代えて3-ブロモ-2-ブタノンを用いた以外はM(IIIA)-2aの合成法に従って、標記化合物 (1.38 g, 71.4%) を得た。

融点: 69~70.5°C

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 270MHz): δ 8.11(d, $J=7.3\text{Hz}$, 2H), 8.02(d, $J=8.2\text{Hz}$, 2H), 7.89(d, $J=7.3\text{Hz}$, 2H), 7.33-7.66(m, 1H), 6.35-6.41(m, 1H), 5.85-5.88(m, 1H), 5.64-5.69(m, 1H), 5.16-5.22(m, 1H), 4.74-4.80(m, 3H), 2.12 and 2.01(s, 3H), 1.52 and 1.49(d, $J=7.1\text{Hz}$, 3H).

元素分析値: $\text{C}_{34}\text{H}_{29}\text{FN}_2\text{O}_{10}$

計算値: C, 63.35%; H, 4.53%; N, 4.35%

実測値: C, 62.36%; H, 4.58%; N, 4.25%

【0050】[IVA] 3-(2-オキソアルキル)-5-フルオロウリジン誘導体の合成

3-(2-オキソプロピル)-5-フルオロウリジン(生成物No. 2a)の合成

出発物質としてM(III)-2に代えてM(IIIA)-2aを用いた以外は生成物No. 2の合成法に従って、標記化合物 (oil, 0.12 g, 82.0%) を得た。

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 270MHz): δ 8.48(d, $J=7.3\text{Hz}$, 2H), 5.76(s, 1H), 5.45(d, $J=5.0\text{Hz}$, 1H), 5.31(s, 1H), 5.12(d, $J=5.0\text{Hz}$, 1H), 4.72(s, 2H), 3.94-4.09(m, 2H), 3.89(s, 1H), 3.53-3.83(m, 2H), 2.21(s, 3H).

元素分析値: $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{FN}_2\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$

計算値: C, 42.86%; H, 5.10%; N, 8.33%

実測値: C, 42.21%; H, 5.13%; N, 8.04%

【0051】3-(2-オキソブチル)-5-フルオロウリジン(生成物No. 3a)の合成

出発物質としてM(III)-3に代えてM(IIIA)-3aを用いた以外は生成物No. 3の合成法に従って、標記化合物 (oil, 0.61 g, 72.6%) を得た。

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 270MHz): δ 8.50(d, $J=6.9\text{Hz}$, 1H), 5.78(s, 1H), 5.47(d, $J=5.0\text{Hz}$, 1H), 5.33(s, 1H), 5.14(d, $J=5.0\text{Hz}$, 1H), 4.73(s, 2H), 4.03(d, $J=4.0\text{Hz}$, 2H), 3.90(brs, 1H), 3.53-3.81(m, 2H), 2.58(q, $J=7.3\text{Hz}$, 2H), 0.98(t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H).

元素分析値: $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{FN}_2\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$

計算値: C, 44.57%; H, 5.47%; N, 8.00%

実測値: C, 44.74%; H, 5.47%; N, 7.88%

【0052】3-(3-メチル-2-オキソブチル)-5-フルオロウリジン(生成物No. 4a)の合成

出発物質としてM(III)-4に代えてM(IIIA)-4aを用いた以外は生成物No. 4の合成法に従って、標記化合物 (0.29 g, 71.6%) を得た。

融点: 134~135.5°C

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 270MHz): δ 8.49(d, $J=7.3\text{Hz}$, 1H), 5.76(d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 5.46(d, $J=4.9\text{Hz}$, 1H), 5.32(t, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 5.12(d, $J=5.0\text{Hz}$, 1H), 4.80(s, 1

(9)

H), 3.97-4.06(m, 2H), 3.89(s, 1H), 3.57-3.73(m, 2H), 2.79-2.89(m, 1H), 1.09(s, 1H), 1.07(s, 1H).

元素分析値: $C_{14}H_{19}FN_2O_7$

計算値: C, 48.56% : H, 5.53% : N, 8.09%

実測値: C, 48.39% : H, 5.75% : N, 8.02%

【0053】3-(1-メチル-2-オキソプロピル)-5-フルオロウリジン(生成物No. 5a)の合成

出発物質としてM(III)-2に代えてM(IIIA)-5aを用いた以外は生成物No. 2の合成法に従って、標記化合物 (oil, 0.45 g, 73.2%) を得た。

1H NMR (DMSO- d_6 , 270MHz): δ 8.48-8.52(m, 1H), 5.75(s, 1H), 5.50(s, 1H), 5.33(d, J=2.6Hz, 1H), 5.18(q, J=6.6Hz, 1H), 5.09(d, J=4.9Hz, 1H), 4.01-4.09(m, 2H), 3.90(s, 1H), 3.53-3.81(m, 2H), 2.06(s, 1H), 1.40(d, J=5.3Hz, 3H).

元素分析値: $C_{13}H_{17}FN_2O_7 \cdot H_2O$

計算値: C, 44.57% : H, 5.47% : N, 8.00%


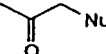
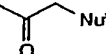
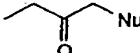
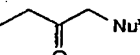
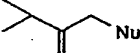
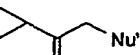
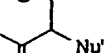
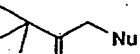
実測値: C, 44.63% : H, 5.63% : N, 7.98%

【0054】実施例1

上記で製造された3-置換5-フルオロデオキシウリジン(生成物No. 1~6)及び3-置換5-フルオロウリジン(生成物No. 2a~5a)の構造を表1に示す。これら生成物の各々の希薄水溶液にヒドロキシルラジカル捕捉剤としてt-ブチルアルコールを添加し、アルゴン飽和下でX線を照射した。照射後の試料溶液を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分析し、基質分解のG値 (Gdeco.) 及び5FdUrd生成もしくは5FUrd生成のG値 (Gr) をそれぞれ求めた。ここで、G値とは放射線(本実施例ではX線)のエネルギー100eV吸収あたりに分解または生成する分子数を指し、値が高いほど分解効率または生成効率が優れていることを示す。また、選択率 (%) = (Gr/Gdeco.) \times 100を算出した。それらの値を表1に併記した。

【0055】

【表1】

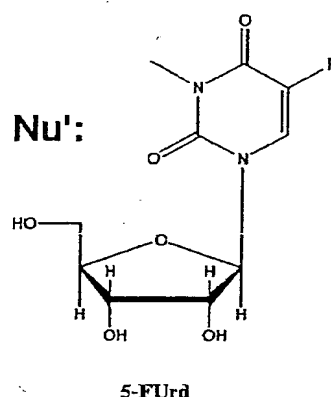
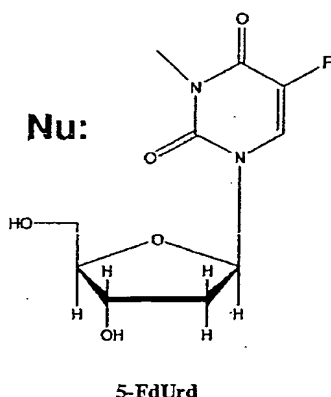
生成物No.	化学構造	Gdeco.	Gr	選択率%
1		0	0	-
2		3.0	1.8	60
2a		-	-	-
3		-	-	-
3a		-	-	-
4		-	-	-
4a		2.48	1.01	40.7
5a		-	-	-
6		2.53	0.75	29.6

表中の化学構造において、Nu及びNu'は、下記構造の省略記号である。

【0056】

【化8】

(10)



【0057】表1に見られるように、5 FdUrd又は5 FUrdのN 3位に2-オキソ置換基をもつ生成物No. 2、No. 4 a 及びNo. 6は、水の放射線分解で発生する水和電子(e_{aq}^-)によって一電子還元され、高い収率で5 FdUrd又は5 FUrdを遊離した。これに対して、2-オキソ置換基を持たない生成物No. 1からは5 FdUrdの遊離は認められなかった。従って、N 3位の置換基が直鎖であるか分岐であるかを問わず、2-オキソ置換基である故に5 Fd

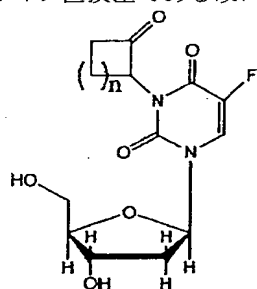
Urd又は5 FUrdの遊離活性を有することが明らかである。

【0058】実施例2

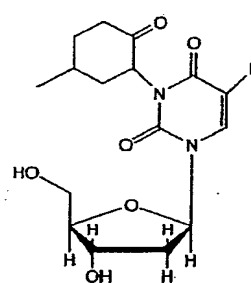
上記で製造された3-置換5-フルオロデオキシウリジン(生成物No. 7~10)の構造を次に示す。

【0059】

【化9】



生成物No. 7-9: n=1-3



生成物No. 10

【0060】これらの生成物についても実施例1と同様に放射線還元分解し、Gdeco.、Gr及び選択率を求め、表2に記載した。比較のために、表1に記載した生成物

No. 1及びNo. 2の各値も表2に併記した。

【0061】

【表2】

生成物No.	n	Gdeco.	Gr	選択率%
1	-	2.1	0	-
2	-	3.0	1.8	60%
7	1	2.8	1.9	70%
8	2	1.9	1.5	78%
9	3	1.8	1.6	89%
10	3	-	-	-

【0062】表2に見られるように、N 3位の置換基が環を構成していても2位がオキソ基である限り、実施例1の非環式置換基をもつ5 FdUrd誘導体と同様に5 FdUrdの遊離活性を有することが明らかである。

【0063】実施例3

アルゴン飽和下でX線を照射することに代えて空气中でX線を照射した以外は、実施例1と同様に生成物No. 2を放射線還元分解し、G値を求めたところ、Gdeco. =

(11)

1. 5、Gr=0.13、選択率9%となり、著しく5FdUrdの遊離活性が低下した。これは、水和電子が酸素によって捕捉されたため、基質の放射線還元反応が抑制されたと考えられる。

【0064】実施例4

これは、本発明の5FdUrd誘導体の放射線還元活性化プロドラッグとしての効能を評価した実験である。対数増殖期のEMT6/KU細胞を培養器から0.25% (W/V) トリプシン溶液で剥がした。牛胎児血清 (FBS) を12.5%含むMEM培地で細胞濃度を10,000/50 μ lに調製し、96穴マイクロプレートにウェル当たり50 μ l加えた。5FU、5FdUrd、実施例1で得られた生成物No. 1及びNo. 2、並びに実施例2で得られた生成物No. 7、No. 8及びNo. 9の各々の化合物を目的濃度の2倍になるように上記の培地で調製し、50 μ lずつウェルに加えた。化合物投与を試験開始時間として、インキュベータ (5%CO₂、37℃) 中で3日間培養した。

【0065】その後、次の手順でMTT法の測定を行った。リン酸緩衝液で5mg/mlに溶解したMTT (臭化3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウム) 溶液を10 μ lずつ加えた。37℃、4時間インキュベートした後、0.01N塩酸を含むイソプロパノール溶液を100 μ lずつ加え、マイクロプレートリーダー (モデル550、BIO-RAD) を用いて検出波長570 nm、参照波長655 nmの吸光度を測定し、薬剤の殺細胞効果を求めた。表3に細胞生存率が50%となる化合物濃度LD₅₀(3d) Mを各化合物毎に示す。また、5FU、5FdUrd及び生成物No. 7の各投与濃度と細胞生存率との関係を図1にグラフで示す。

【0066】

【表3】

化合物	LD ₅₀ (3d) M
5FU	1.0×10^{-6}
5FdUrd	8.0×10^{-8}
1	$>1.0 \times 10^{-3}$
2	$>1.0 \times 10^{-3}$
7	7.3×10^{-4}
8	$>1.0 \times 10^{-3}$
9	3.8×10^{-4}

表3及び図1に見られるように、本発明の5FdUrd誘導体は、細胞に対してほとんど毒性が無いが、5FdUrdになると5-フルオロウラシルの10倍以上の毒性を発揮することが判った。

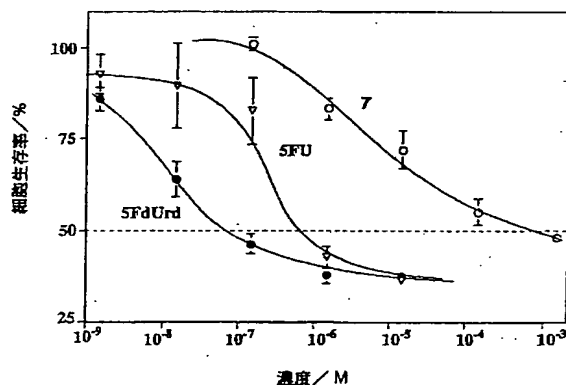
【0067】

【発明の効果】以上のように、本発明の新規ヌクレオシドは、生体に対して毒性が無く、且つ放射線照射によって5-フルオロデオキシウリジン又は5-フルオロウリジンを遊離することができる。このため放射線照射で活性化される抗腫瘍性プロドラッグとして有益である。しかも有酸素下の放射線照射では遊離せず、無酸素下の放射線照射によって効率よく遊離するので、正常細胞を傷めることなく低酸素ガン細胞の増殖を抑制することができ、極めて有益である。

【図面の簡単な説明】

【図1】化合物の投与濃度に対する腫瘍細胞の生存率を示すグラフである。

【図1】



(12)

フロントページの続き

(72)発明者 森 満子
京都府京都市左京区吉田上阿達町20-8-
305
(72)発明者 榊原 進吾
京都府京都市左京区吉田泉殿町40 スプリ
ングハウス201

Fターム(参考) 4C057 BB02 BB05 CC03 DD01 LL13
LL18 LL19
4C084 AA11 NA15 ZB261 ZC801
4C086 AA02 AA03 EA16 NA15 ZB26
ZC80